Die Rolle der Eiweißzufuhr in der Krebschemotherapie mit Endoxan

Wolfgang Schoyerer

1967

Aus der Chirurgischen Klinik des Städtischen Krankenhauses München rechts der Isar

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. Georg Maurer

DIE ROLLE DER EIWEISSZUFUHR IN DER KREBSCHEMOTHERAPIE MIT ENDOXAN

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der Ludwigs-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Wolfgang Schoyerer

aus

Cham / Oberpfalz

München

1967

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. G. Maurer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. R. Zenker

Dekan: Prof. Dr. M. Kiese

Tag der mündlichen Prüfung: 10. 1. 1967

DIE ROLLE DER EIWEISSZUFUHR IN DER KREBSCHEMOTHERAPIE MIT ENDOXAN.

A. EINLEITUNG

B. MATERIAL UND METHODE
1. Versuchstiere
a) BD II - Ratten
b) Sprague-Dawley - Ratten
2. Haltungsbedingungen
3. Transplantationstumoren
a) Yoshida-Sarkom
b) DS-Karzinom
4) Tumorimplantation
a) solider Tumor
b) Aszitestumor
5. Zusatzfütterung
6. Chemotherapie

C. EXPERIMENTELLER TEIL
I. Versuche mit Standarddiät und Leberfütterung
1. Unbehandeltes, solides Yoshida-Sarkom
2. Solides Yoshida-Sarkom und Endoxantherapie
3. Versuche mit DS-Aszites-Karzinom
a) Tumorwachstum an BD II - Ratten
b) Chemotherapie des DS-Tumors mit Endoxan
c) Weiterimpfung von DS-Aszitezellen nach Endoxantherapie
II. Versuche mit eiweißarmer Grundnahrung
1. Wachstum des unbehandelten Yoshida-Sarkoms
2. Angehrate von DS-Aszites-Karzinom bei simultaner Endoxantherapie

D. DISKUSSION
E. ZUSAMMENFASSUNG
F. LITERATURVERZEICHNIS

DIE ROLLE DER EIWEISSZUFUHR IN DER KREBSCHEMOTHERAPIE MIT ENDOXAN.

A. EINLEITUNG

Wie DRUCKREY, STEINHOFF, NAKAYAMA, PREUSSMANN und ANGER (1963) gezeigt haben, muß Endoxan bei der Chemotherapie maligner Geschwülste, zur Erzielung eines optimalen Effektes bewußt hochdosiert, in Form der Stoßtherapie angewandt werden. Dabei ist immer mit einer mässigen, nicht selten aber mit einer hochgradigen Leukopenie zu rechnen, bei deren Auftreten für den Therapeuten das Problem erwächst, wie er sich gegenüber diesem Spmptom verhalten soll. In vielen Fällen wird versucht, die Leukopenie mit Cortisonderivaten und Bluttransfusionen anzugehen. Die Anwendung dieser beiden Therapeutika erscheint jedoch fragwürdig, wenn man bedenkt, daß durch Cortisonderivate zum einen die Infektionsabwehr weiter geschwächt wird, zum anderen in der aus der Endoxantherapie resultierenden Leukopenie keine Indikation für eine Cortisonanwendung erwächst, da Cortison nur bei allergischer Knochenmarksinsuffizienz zu einer beschleunigten Erholung des Marks führt, nicht dagegen bei den durch Endoxan hervorgerufenen Depressionen, diese sind bei der Kombination von Prednisolon und Endoxan sogar ausgeprägter als bei alleiniger Endoxantherapie (FLEISCHER 1963). Auch der Wert der Bluttransfusion wird unterschiedlich beurteilt. So formuliert K.H. BAUER (1963) wohl die allgemeine Auffassung über den Wert für Krebspatienten, wenn er der Transfusion eine positive Rolle zuspricht und sie als parenterale Eiweiß-, Hormon- und Vitaminzufuhr empfiehlt. Dem steht der Rat DRUCKREY's (1954) gegenüber bei der symptomatischen Therapie Krebskranker auf eine mässige und besonders eiweißarme Kost zu achten und die wiederholte Beobachtung in der Klinik, daß

die übliche Operationsvorbereitung Krebskranker mit Bluttransfusionen nicht nur geringen Erfolg hat, sondern sogar eine Beschleunigung des Tumorwachstums und eine unerwünschte Verschlechterung zu verursachen scheint. So bleibt der Hämoglobinspiegel auch nach wiederholten Transfusionen oft unverändert, auch ergibt sich keine Besserung im Allgemeinzustand der Patienten, so daß ein nahezu ausschließlicher Verbrauch der mit dem Blut zugeführten Substanzen im Tumor vermutet werden muß. Die Beobachtungen lassen auch an einen erhöhten Anfall von Toxahormon (NAKAHARA 1949, GREENSTEIN 1954) denken. Es stellt sich die Frage, ob einer der Blutbestandteile für die nach Transfusionen beobachteten Effekte verantwortlich ist.

In der Literatur findet sich eine ganze Anzahl von Arbeiten, die sich mit dem Einfluß verschiedener Nahrungsbestandteile auf das Krebswachtum befassen. Beim Studium der Arbeiten zeigt sich, daß die Ansichten über die Bedeutung von Fett und Kohlenhydrate für das Tumorwachstum (SUGIARA and BENEDICT 1930, TANNENBAUM 1942, SILVERSTONE and TANNENBAUM 1950, GROPP 1952 CHAPMAN, BROWN et al. 1954) nicht übereinstimmen. Der Einfluß der Nahrungsbestandteile scheint vielmehr über eine Änderung der kalorischen Nahrungswertigkeit zu erfolgen. Von den Vitaminen kommt noch die größte Bedeutung denen des B-Komplexes zu; besonders bei Fehlen von Pyridoxin, Riboflavin und Folsäure wird von einem wachstumshemmenden Effekt berichtet (STOERCK and EMERSON 1949, LITTLE et al. 1948, KIRSCHBAUM et al. 1950). Die Ansichten über die Bedeutung anorganischer Stoffe gehen weit auseinander, da der Gehalt an Kationen und Anionen je nach Tumorart und Untersuchungsmethode ungemein wechselt (STERN und WILLHELM 1943, DANNENBERG 1959).

Die Berichte stimmen darin überein, daß es möglich ist, durch eine Einschränkung der Eiweißzufuhr die Tumorentwicklung zu beeinträchtigen (VOEGTLIN

and THOMPSON 1936, VOEGTLIN and MAYER 1936, MORRIS and VOEGTLIN 1940, KOCHER 1944, GREEN et al. 1950, DEVIK et al. 1950).

Während die anderen Faktoren mehr von theoretischem Interesse sind, scheint das Eiweiß einen nicht unbedeutenden Einfluß auf den Tumor zu besitzen. Aus der Tatsache, daß den Krebspatienten mit Bluttransfusionen nicht unbedeutende Mengen an Eiweiß zugeführt werden, ergab sich die bewußt allgemeine Problemstellung der vorliegenden Arbeit:

"Ist die verstärkte Eiweißzufuhr, sei es als Bluttransfusion oder als eiweißreiche Ernährung, von Einfluß auf die Wachstumsgeschwindigkeit und auf die Eigenschaften von Neoplasmen und damit auf die Heilungschancen des Tumorträgers während einer Chemotherapie? Sind Bluttransfusionen bei einer Leukopenie nach Endoxanstoßtherapie indiziert?"

Als Beitrag zu dieser Problematik wurden Tierversuche durchgeführt, um die Wirkung zusätzlicher Eiweißverabreichung auf das Tumorwachstum und indirekt auf die zytostatische Wirkung von Endoxan zu prüfen.

B. MATERIAL und METHODE.

1. Versuchstiere

Für die Untersuchungen wurde die Laboratoriumsratte als Versuchsobjekt gewählt, da sie im Rahmen der Arzneimittelforschung, vor allem aber in der Krebsforschung, vielseitig Verwendung findet. Besonders geeignet ist die Ratte für die Verwendung von transplantablen Tumoren, ein Vorzug, den sie mit der Maus teilt. Diese ist aber in ihren Reaktionen zu labil und zu anfällig gegenüber äusseren Einwirkungen. Impftumoren fehlen, die sich experimentell bei grossen Tieren genauso gut verwenden liessen wie bei der Ratte, auch ist mit größeren Versuchstieren keine für die statistische Auswertung genügend große Anzahl zu erreichen.

Für Experimente an Versuchstieren gilt, optimale Genauigkeit der Haltungs- und Versuchsbedingungen anzustreben. Die Messgrößen im Tierexperiment stellen Reaktionen der einzelnen Tiere dar, so daß eine Grenze der Genauigkeit hier durch die Berücksichtigung der individuellen Variation der Versuchstiere gegeben ist. Deshalb hat die Auswertung der erhaltenen Versuchsergebnisse mit statistischen Methoden zur Voraussetzung, daß die Variation im Tiermaterial einer Normalverteilung entspricht, eine Forderung, die bei heterologem Tiermaterial nicht erfüllt ist. Die anzustrebende Genauigkeit kann nur durch die Verwendung von genetisch einheitlichen Tierstämmen erreicht werden, deren Merkmalswerte einer Normalverteilung entsprechen und eine möglichst begrenzte individuelle Variation zeigen. Diesen theoretischen Forderungen genügen die durch Inzucht gewonnenen Stämme, deren Einzeltiere Zwillingen nahezu entsprechen (DRUCKREY 1962). Die Versuche mit einem Inzuchtstamm bergen aber die Gefahr in sich, daß beobachtete Effekte nicht ohne weiteres auf andere Stämme, Tierarten oder gar Menschen, übertragen werden können. Daher war es

nötig, die Versuche an mindestens 2 verschiedenen Inzuchtrattenstämmen durchzuführen.

1 a) BD II - Ratten

Als genetisch definierte Stämme bieten sich vor allem die von DRUCKREY und Mitarbeitern seit 1937 entwickelten BD - Stämme an. Aus den 10 zur Verfügung stehenden wurde der Stamm BD II gewählt. Dieser Stamm wurde von DRUCKREY aus Wistar-Ausgangsmaterial herausgezüchtet. Von anderen Albinoratten unterscheiden sich die BD II - Tiere durch folgende Merkmale:
sie sind hinsichtlich der Pigmentierung in ihrer genetischen Struktur als ccPPaahh definiert (DRUCKREY 1962, sie sind also Albinoratten mit roten Augen, das Fell der Tiere ist leicht gesträubt und hat ein helleres Weiß als andere Albinostämme, die Behaarung ist nicht besonders dicht, an den Oberschenkeln und abdominalen Zonen leicht flaumig (BROCK und KREYBIG 1964), die Augen sind rot und leicht herausstehend, gelegentlich wird einseitige oder auch beidseitige Mikroophthalmie und Anophthalmie beobachtet, wobei es sich um eine Phaenokopie handeln dürfte (DRUCKREY 1962), der Skelettbau ist zart, die Tiere werden nicht allzuschwer (in dem für die Versuche zur Verfügung stehendem Tiermaterial wurden selten Tiergewichte über 350 Gramm beobachtet), die BD II - Ratten sind recht empfindlich und erfordern optimale Haltungsbedingungen.
Die verwendeten Tiere stammen aus eigener Weiterzucht aus Zuchtpärchen von DRUCKREY und KREYBIG.
(Herrn Professor Dr. H. Druckrey und Herrn Dr. Th von Kreybig sei an dieser Stelle herzlich für die Überlassung der Tiere gedankt.)

1 b) Sprague-Dawley-Ratten (Madison-Standard-Rat)

Als 2. Rattenstamm wurde der neben den Wistar - Ratten international bekannte Stamm Sprague-Dawley ge-

wählt, der auch in Deutschland sehr häufig verwendet wird (HAGEMANN 1960). Der Stamm Sprague-Dawley wurde 1925 von Robert Dawley in Madison entwickelt und hat große Verbreitung gefunden. Auch die Sprague-Dawley sind wie die BD II - Tiere Albinoratten mit roten Augen. Hinsichtlich ihrer genetischen Konstitution weichen sie von den BD II ab, sie erweisen sich auch nicht als völlig einheitlich und sind nicht aus mit Sicherheit streng durchgeführter Bruder-Schwester-Inzucht zu erhalten. Sie zeigen kein reines Weiß, es ist ihnen ein leichter Gelbton eigentümlich. Das Fell ist dicht und glatt, bei guter Ernährung glänzend. Besonders auffallend ist an dem Stamm die vermutlich genetisch bedingte Großwüchsigkeit und Entwicklungsfreudigkeit. Die Tiere sind von kräftigem Körperbau, vital und robust, männliche Tiere mit mehr als 400g Körpergewicht waren in dem zur Verfügung stehenden Tiermaterial keine Seltenheit.
Die Tiere stammen aus der Zucht Hagemann in Lemgo und der Zucht Wiga in Ottobrunn.

2. Haltungsbedingungen

Das Tiermaterial war in einem neuen Tierstall, in einem hellen und luftigen Raum, untergebracht, in dem die Raumtemperatur zwischen 22 und 25 Grad Celsius, die relative Luftfeuchtigkeit um 60 Prozent lag. Die Heizung erfolgte durch ein Warmluftsystem. Für die Entlüftung sorgte ein Ventilator. Die Freiheit von Zugluft war gewährleistet. Die Tiere wurden in Plastibox-Käfigen gehalten, die mit Hobelspänen ausgelegt waren. Die Käfige wurden in der Regel alle 4 Tage gewechselt und nach jeder Benützung sterilisiert. In einem Käfig wurden maximal 5 Tiere gehalten. Die Tränkung erfolgte durch eine Tropfflasche pro Käfig, die Fütterung im Automaten mit Pressfutter von 16 mm Durchmesser, wozu die Standard-Laboratoriums-

diät R.M.H. - B der Firma Hope Farms verwendet wurde. Die Zusammensetzung des Futters ist in Tabelle 1 angegeben.

Eiweiß gesamt %	22,4	Spurenelemente			
Eiweiß verdaulich %	21,3	Eisen	mg/kg		137,0
Arginin %	1,20	Mangan	"	"	60,8
Lysin %	1,14	Zink	"	"	57,0
Methionin %	0,52	Kupfer	"	"	21,2
Cystin %	0,28	Kobalt	"	"	0,12
Tryptophan %	0,23	Jod	"	"	0,52
Phenylalanin %	1,00	Vit. A	IE/kg		26,800,0
Tyrosin %	0,71	Vit. D3	"	"	3.700,0
Leucin %	1,52	a-Tokopherol	mg/kg		88,5
Isoleucin %	0,98	Vit. K	"	"	5,2
Histidin %	0,53	Thiamin	"	"	14,8
Threonin %	0,75	Niacin	"	"	72,1
Valin %	1,16	verwertbar			29,1
Fett %	6,5	Riboflavin	mg/kg		10,5
Linolsäure %	2,3	Pantothensäure	"	"	23,3
Faser %	4,2	Folsäure	"	"	2,7
Mineralstoffe %	5,4	Pyridoxin	"	"	6,7
Calcium %	1,03	Cholin	"	"	1538,0
Phosphor %	0,78	Vit. B-12	mcg/kg		31,0
Kalium %	0,59	Biotin	"	"	200,0
Magnesium %	0,28	Vit. C	mg/kg		100,0

Tabelle 1: Chemische Analyse des Standardfutters

3. Transplantationstumoren

Aus dem Spektrum der international bekannten Impftumoren (DUNHAM and STEWART 1953) wurden 2 Geschwülste ausgewählt.

a) Yoshida-Sarkom

Das Yoshida-Sarkom stellt einen international viel verwandten, wirtsfremden Transplantaionstumor dar. Der Tumor wurde 1943 durch Verfütterung von ortho-Aminoazotoluol und von 4-Dimethylaminoazobenzol an der Ratte als Leberkrebs erzeugt und durch YOSHIDA definiert. Der Tumor wird seitdem als heterozygote Geschwulst weitergeimpft. Das Yoshida-Sarkom besitzt auf vielen Rattenstämmen eine hohe Angehrate von 91 - 100 % (DUNHAM and

STEWART 1953), es wächst lokal infiltrierend, zeigt eine späte Metastasierung, ist relativ maligne und führt schnell zum Tod des Wirtstiers. Der Tumor spricht gut auf zytostatische Behandlung an, die therapeutische Breite zwischen kurativer und letaler Dosis ist sehr günstig. Das Yoshida-Sarkom läßt sich zum einen als solide Geschwulst verimpfen, wenn von einem soliden Tumor ausgegangen wird, zum anderen teilt es mit verschiedenen anderen Impfgeschwülsten die Eigenschaft, bei intraperitonealer Impfung einer Zellsuspension als sogenannter Aszitestumor zu wachsen.

Für die vorliegenden Versuche wurde das Yoshida-Sarkom als solider Tumor verimpft. Der Angang des Tumors bei Überimpfung auf Sprague-Dawley-Ratten war in den verwendeten Versuchen 100 %.

b) DS-Karzinosarkom

Wegen seiner Eigenschaften als Inzuchttumor wurde das DS-Karzinosarkom als 2. Tumor gewählt. Die Geschwulst wurde an Ratten der BD-Inzuchttiere erzeugt und im Stamm weiter transplantiert, so daß sich ein "reiner" Tumorstamm ergab (SCHMÄHL und RIESEBERG 1956, 1958). Der Tumor ist aus einem mit 4-Dimethylaminostilben erzeugten Plattenepithelkrebs des Rattengehorgangs hervorgegangen und ursprünglich als Karzinosarkom beschrieben worden. Er hat inzwischen eine Veränderung zum Karzinom durchgemacht. Das DS-Karzinom ist sehr geeignet, da ähnlich wie bei menschlichen Geschwülsten eine weitgehende genetische Übereinstimmung mit dem Wirtsorganismus besteht, Ausserdem beansprucht das DS-Karzinom besonderes Interesse, weil es durch keine der bekannten zytostatischen Substanzen mehr heilbar ist (es sind nur kurzfristige Remissionen zu erzielen), und es daher als Modell für die relativ resistenten menschlichen Geschwülste gelten kann, denen es auch in seinen Metastasierungseigenschaften ähnelt. Der DS-

Tumor wächst weniger infiltrierend als das Yoshida-Sarkom. In vitro sind zur Vernichtung aller DS-Zellen die 50 - bis 100- fache Konzentration der am Yoshida-Sarkom erforderlichen zytostatischen Dosen nötig, d.h. "dosis curativa" für den DS-Tumor liegt weit im letalen Bereich (BROCK 1958).

Wie das Yoshida-Sarkom liegt das DS-Karzinom als solide Geschwulst und als Aszitestumor vor. Die Aszites tumorzellen haben den Vorteil, "nackt" in der Aszitesflüssigkeit zu schwimmen, sie sind deshalb zytologisch leicht beobachtbar und stellen gewissermassen "wandelnde Gewebskulturen" dar (BAUER,K.H. 1963). In den vorliegenden Versuchen wurde die Form des Aszitestumors benutzt. Die Angehrate des Tumors an BD II Ratten betrug 100 Prozent.

Der Aszitestumor wurde auf die Weise erhalten, daß einer Ratte, die einen soliden DS-Tumor trug, steril Tumormaterial entnommen und aus den gut ernährten Tumorteilen eine Aufschwemmung in Ringerlosung bereitet wurde. Diese Aufschwemmung wurde einem Tier intraperitoneal injiziert. Nach 6 Tagen zeigte das Tier deutlich Aszites, in dem in großer Zahl freie Krebszellen schwammen. Der Tumor kann jetzt sofort als Aszitestumor weitergeimpft werden.

4. Tumorimplantation

a) Solider Tumor

Ein tumortragendes Tier wird durch Abreissen des Rückenmarks getötet, die Behaarung über dem Tumorgebiet sorgfältig entfernt und die Haut mit Jodtinktur und anschliessend mit 70 % igem Alkohol gereinigt und desinfiziert. Mit chirurgischer Pinzette und gebogener Schere wird ein Hautschnitt um den Tumor gelegt, nach einem Instrumentenwechsel wird die Geschwulst herauspräpariert und mit einem breiten Skalpell in gleiche

Scheiben zerschnitten. Aus dem Material der guternährten Randpartien werden möglichst gleiche Stückchen von der Größe 5 x 3 x 1 mm entnommen, mit jeweils zwei dieser Stückchen wird der Impftrokar, der nicht zu kurz sein sollte, geladen. Da es sich als ungünstig erwiesen hat, die zu impfenden Tiere zu narkotisieren (die Gefahr der Atemwegsschädigung und besonders der Einwirkung des Narkosemittels auf den Tumor ist zu groß), faßt ein Assistent das Tier an einer Hautfalte kurz hinter dem Kopf, mit der anderen Hand am Schwanz, und fixiert so das Tier für die Zeit der Tumorimplantation. Der Operateur kann nun über der Sakralgegend, etwas neben der Mittellinie, die Haare auf einer Fläche von 30 mm Durchmesser entfernen und das freigelegte Hautstück desinfizieren. Mit einer Pinzette wird eine Hautfalte angehoben und in diese ein kleiner Hautschnitt gesetzt, durch den nun der tumorgeladene Trokar in der Hautverschiebeschicht nach kranial geschoben werden kann. Das Tumorstück wird möglichst interskapular aus dem Trokar gestoßen, durch die Haut hindurch mit den Fingern am Implantationsort fixiert, während das Instrument wieder entfernt wird. Abschliessend wird die kleine Hautwunde geklammert und mit einem Nobekutanfilm überzogen.

b) Aszitesüberimpfung

Ein aszitestragendes Tier wird getötet, die Haare sorgfältig von der Bauchhaut entfernt und Jodtinktur aufgebracht, die nach 5 Minuten wieder mit 70 %igem Alkohol abgewaschen wird. Nach dieser Vorbereitung wird die Bauchhaut in der Mittellinie aufgeschnitten und stumpf nach beiden Seiten abpräpariert. Nun erst wird die Bauchhöhle eröffnet, der Aszites steril entnommen und in einem Gefäß gesam-

melt. Der so gewonnene Aszites wird möglichst rasch, bevor er Veränderungen erleiden kann, überimpft. Dazu wird das mit Aszitestumor zu impfende Tier mit der linken Hand gefaßt, wobei mit Daumen und Zeigefinger das Tier an einer Hautfalte am Hinterkopf gehalten wird, während mit den übrigen Fingern und dem Daumenballen die Rückenhaut bis weit nach kaudal in einer möglichst großen Falte gerafft wird, so daß die Bauchhaut des Tieres straff gespannt ist. Diese Methode erwies sich als günstiger als die in der Literatur angegebene (GRIFFITH in FARRIS and GRIFFITH 1962). Weiter wird mit der rechten Hand, knapp über der rechten Hüftbeuge der Tiere, am Unterbauch ein Hautfeld von 20 bis 30 mm Durchmesser von Haaren entblösst und desinfiziert. Zur Aszitesimpfung wird eine Tuberkulinspritze und eine dicke Kanüle verwendet, letztere, um einer Verletzung von Baucheingeweiden vorzubeugen. Da aber bei dem weiten Stichkanal die Gefahr besteht, daß eine unkontrollierbare Menge von Aszites zurückläuft, muß so vorgegangen werden, daß man kaudal an der gereinigten Hautfläche einsticht, die Kanüle erst eine Strecke weit zwischen Haut und Muskulatur vorschiebt, um erst dann den Aszitestumor in die Bauchhöhle zu injizieren.

5. Zusatzfütterung

Um aus des Versuchen mit größerer Berechtigung Rückschlüsse auf das Verhalten menschlicher Geschwülste gegenüber der parenteralen Eiweißzufuhr ziehen zu können, wäre es wünschenswert gewesen, die Eiweißzufuhr auch bei der Ratte in Form einer Transfusion vorzunehmen. Dies hat sich aber an den Versuchstieren als undurchführbar erwiesen, weshalb die Eiweißzufuhr in Form einer Leberverfütterung durchgeführt wurde. Die Fütterung von Leber wurde gewählt, weil diese sehr viel Eiweiß (über 20 % des Feuchtgewichts, 66 %

des Trockengewichts nach DOKUMENTA GEIGY 1960), besonders Fermenteiweiß und Aminosäuren enthält, und vergleichsweise arm an unverwertbarem Bindegewebe ist.
Es wurde pro Tag und Tier 5 Gramm Leber gefüttert, wobei die Tiere das Standardtrockenfutter und Wasser ad libitum zusätzlich geboten bekamen.
Da aber die Standarddiät in ihrer Zusammensetzung sehr gut ist und besonders Protein in einem ausreichenden Anteil enthält, wurde einige Versuche mit einer anders zusammengesetzten Diät durchgeführt. Hierbei erhielten die Tiere der einen Gruppe täglich 30 Gramm eines Reis-Öl-Gemisches (2,2 % Protein, 44 Kal), Karotten und Salzgemischlösung nach MC COLLUM ad libitum, die Tiere der anderen Gruppe ebenfalls täglich 30 Gramm des Reis-Öl-Gemisches, Karotten und Salzgemischlösung ad libitum, zusätzlich aber 5 Gramm Leber pro Tag und Tier, was einer täglichen Zufuhr von 50 Kilokalorien entspricht.

Ca - Laktat	130	NaH_2PO_4 H_2O	34,7
$Ca(H_2PO4)_2 \cdot H_2O$	54	$MgSO_4$	26,6
K_2HPO_4	95,4	Fe III Citrat	11,8
Na Cl	17,3		

Tabelle 2: Salzgemisch nach MC COLLUM (1918)

Die Tiere erwiesen sich nach Gaben von hohen Zytostatikadosen (70 mg/kg) als hochgradig inappetent. In diesen Fällen mußte die Leber homogenisiert werden, um den Tieren dann mit einer Schlundsonde beigebracht zu werden. Während MACHELLA und GRIFFITH (1962) dazu eine Gummisonde empfehlen, wurde eine Metallsonde verwendet, die ein rascheres und sicheres Arbeiten erlaubt. Bei niedriger Zytostatikadosierung (5 mg/kg) war keine Inappetenz zu beobachten, die Leber konnte hier in unbehandelter Form verfüttert werden und sie wurde gerne gefressen.

6. Chemotherapie

Als Chemotherapeutikum wurde ein Präparat aus der Reihe der alkylierenden Substanzen, das Cyclophosphamid (ENDOXAN), das N,N-Bis(2-chloräthyl-)N', O-propylen-phosphorsäureamid verwendet. Die Anwendung von Endoxan erfolgte in Form der wirksameren Stoßtherapie (DRUCKREY, STEINHOFF, NAKAYAMA, PREUSSMANN und ANGER 1963). Die Dosierung des Zytostatikums in den einzelnen Versuchsreihen ist in Tabelle 3 angegeben

Impftumor	benützte Dosis	Lösungsmittel	Applikationsart
Yoshida-Sarkom	1 x 5 mg/kg	0,9 %ige NaCl-Lösung	i.v.
DS-Karzinom	1 x 70 mg/kg	0,9 %ige NaCl-Lösung	i.v.

Tabelle 3: Verwendete Endoxandosierung

Es wurde jeweils eine einmalige Behandlung mit Endoxan durchgeführt.

Den ASTA-Werken sei für die freundliche Zurverfügungstellung von Endoxanreinsubstanz gedankt.

C. EXPERIMENTELLER TEIL

I. Versuche bei Standarddiät und Leberfütterung

1. Wachstum des unbehandelten, soliden Yoshida-Sarkoms

Den Hauptversuchen mit Chemotherapie und unterschiedlich eiweißreicher Fütterung wurde ein orientierender Versuch vorausgeschickt. Es galt zu erfahren, wieweit und in welcher Weise sich eine proteinreiche Diät auf das Wachstum eines unbehandelten Tumors auswirkt.
Der Versuch wurde mit erwachsenen, männlichen Sprague-Dawley-Ratten von 300 Gramm Körpergewicht und dem soliden Yoshida-Sarkom durchgeführt.
Den Tieren wurden 2 Stückchen des soliden Tumors, die 5 x 3 x 1 mm groß waren, unter die Rückenhaut implantiert, wobei der Impftumor bei 100 Prozent der Implantationen anging. Unter Berücksichtigung der Gewichtsgleichheit wurden die geimpften Tiere auf 2 Gruppen verteilt. Beide Gruppen erhielten die Standarddiät und Wasser ad libitum; eine Gruppe wurde während der ganzen Dauer des Versuchs zusätzlich mit 5 Gramm Leber pro Tag und Tier gefüttert.
Zur Kontrolle der Entwicklung des Tumorgewichts wurde folgende Methode verwandt:
Da sich der Tumor subkutan entwickelt und der Palpation durch die Haut gut zugänglich ist, kann ein möglichst getreues Modell des Tumors aus Plastillin hergestellt werden. Nach ausreichender Einarbeitung in diese Methode liegt die Größe des mittleren Fehlers bei ± 5 Prozent (DRÜCKREY 1963). Die erhaltene Tumornachbildung wird gewogen. Die spezifischen Gewichte von Modelliermasse und Tumor sind bekannt, sie verhalten sich wie 2:1, daher kann durch einfache Umrechnung aus dem gewogenen Modellgewicht das Tumorgewicht ermittelt werden. Das Körpergewicht der Versuchstiere im Verlauf des Versuches wird durch Wägung in Abstän-

den von 2 Tagen kontrolliert.

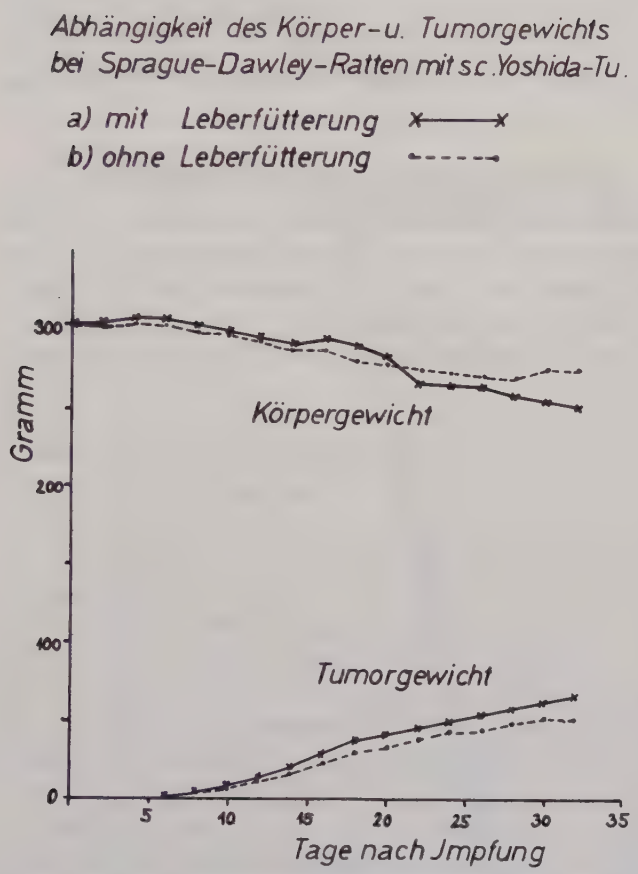

Abb. 1: Abhängigkeit des Körper- und Tumorgewichts bei Sprague-Dawley-Ratten mit s.c. Yoshida-tumor vom Eiweißgehalt der Nahrung
Mit Leberfütterung 20 Tiere
Ohne Leberfütterung 18 Tiere

a) Tumorgewicht

Die Verfolgung des Tumorwachstums ergibt, daß sich die Geschwülste der Gruppe mit Leberzusatzfütterung schneller entwickeln; sie erreichen das gleiche Gewicht deutlich früher als in der Gruppe ohne Leberfütterung (Abb. 1), obwohl die Standarddiät ausreichend Eiweiß enthält.

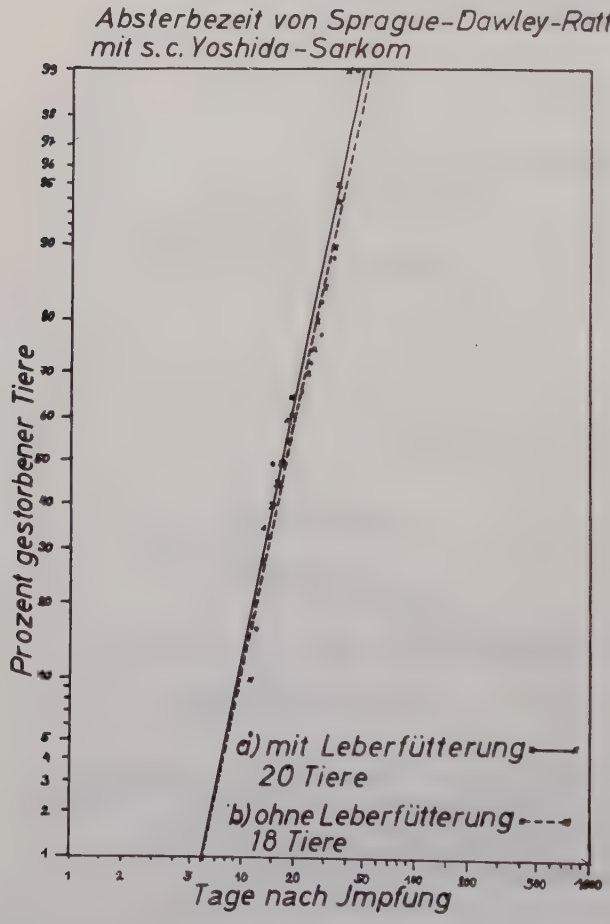

Abb. 2: Absterbezeit der Sprague-Dawley-Ratten mit s.c. Yoshida-Sarkom

b) Körpergewicht der Tiere:

Das Körpergewicht der Tiere (Gesamtgewicht abzüglich Tumorgewicht) sinkt im Verlauf des Versuchs langsam ab. Die Gewichtskurven für die beiden Gruppen verlaufen zunächst weitgehend parallel; von einem Tumorgewicht von ungefähr 25 Gramm an fällt das Gewicht der lebergefütterten Tiere stärker ab (Abb. 1).

c) Absterbezeit:

Die Absterbezeit bei den Tieren mit und ohne Leberzusatzfütterung war etwa gleich; die lebergefütterten Tiere sterben etwas früher; die Prüfung im Wahrscheinlichkeitsnetz (Anpassung der Probit-Regressionsgeraden mit der Maximum-Likelihood-Methode von FINNEY, siehe E. WEBER 1964) zeigt keinen deutlichen Unterschied (Abb. 2).

2. Verhalten des soliden Yoshida-Sarkoms unter der Therapie mit Endoxan

Der Versuch wurde mit erwachsenen, männlichen Sprague-Dawley-Ratten von 250 Gramm Gewicht angestellt, auf die 2 Stückchen soliden Yoshida-Tumors von der Größe 5 x 3 x 1 mm subkutan verimpft wurden. Es war ein 100-prozentiger Tumoranwuchs zu beobachten. Allen Tieren wurde Standarddiät und Wasser ad libitum geboten; eine Gruppe erhielt vom 7. Tag nach der Impfung ab pro Tag und Tier zusätzlich 5 Gramm Leber.

Zwischen dem 7. und 8. Tag haben alle Tiere ein Tumorgewicht von 4 Gramm $\pm$ 10 % erreicht, so daß am 8. Tag allen Tieren eine Lösung von 5 mg Endoxan pro Kilogramm Körpergewicht gespritzt werden kann. Der für die Leberfütterung vorgesehenen Gruppe wird vom 7. Tag ab die Leber gegeben, von dem Zeitpunkt an, zu dem alle Tiere das Tumorgewicht von 4 Gramm $\pm$ 10 % erreicht haben. Die Tumorgröße nimmt bei allen Tieren nach der Chemotherapie ab, die Schnelligkeit des

Tumorschwundes weist geringe Unterschiede auf. 10 Tage nach der Endoxangabe ist die Tumorgröße auf durchschnittlich 0,4 Gramm gesunken. Als Kriterium für die Wirksamkeit der Endoxantherapie dient das weitere Schicksal des Tumors. Bei einem Teil der Tiere ergibt sich ein weiterer Schwund des Tumors bis zur endgültigen Heilung, bei den übrigen Tieren tritt ein Rezidiv auf.
Die geheilten Tiere werden über 90 Tage kontrolliert; da ein Monat im Leben einer Ratte etwa 3 Jahren beim Menschen entspricht (DRUCKREY 1954, HAGEMANN 1960), kann ein Vergleich mit der 5 - Jahresheilung angestellt werden. Die Tiere die ein Rezidiv zeigen, werden bis zu ihrem Absterben beobachtet. Das Ergebnis des Versuchs zeigt Tabelle 4.

	Mit Leber	Ohne Leber	
Heilung	5	9	14
Rezidiv	5	1	6
	10	10	20

Tabelle 4: Verteilung von Heilung und Rezidiv der Tiere mit und ohne Leberfütterung, s.c. Yoshida-Sarkom an Sprague-Dawley-Ratten. 5mg/kg Endoxan i.v.

Die Irrtumswahrscheinlichkeit für die Annahme, daß nach Leberzusatzfütterung vermehrt Rezidive auftreten, war nach dem "exakten Test" von R.A. FISHER (siehe WEBER, E. 1964) 7,04 Prozent.

3. Versuche mit DS-Aszites-Karzinom

Die Versuche mit dem soliden Yosnida-Sarkom hatten

den Vorteil, eindeutige Ergebnisse zu bringen, wie sie die einander ausschliessenden Ereignisse, Heilung und Rezidiv darstellen. Da der gegenüber zytostatischen Substanzen empfindliche Yoshida-Tumor nur bedingt einen Vergleich mit den meist sehr therapieresistenten menschlichen Tumoren zuläßt, wurden Versuche mit dem äußerst resistenten DS-Karzinom an BD II - Ratten durchgeführt.

a) Wachstumseigenschaften des DS-Aszites-Karzinoms

Es mussten zuerst Wachstumsgeschwindigkeit und Eigenschaften des DS-Aszites-Karzinoms und die Überlebenszeit der Versuchstiere ermittelt werden, um das Verhalten des Tumors am vorliegenden BD II - Tiermaterial in Erfahrung zu bringen. Dazu werden Tiere, die mit der gleichen Zellzahl von 40 Millionen geimpft sind, an verschiedenen Tagen getötet, bei jedem Tier durch Absaugen die genaue Aszitesmenge bestimmt, durch Auszählen in der Zählkammer die Zellzanl ermittelt und ein Ausstrichpräparat angefertigt (in absolutem Propylalkohol fixiert und nach Giemsa gefärbt). Die Anzahl der gesamten in der Bauchhöhle befindlichen Zellen wird als Produkt der Zellzahl in der Raumeinheit und der Aszitesmenge erhalten. Das gefärbte Ausstrichpräparat wird nach Mitosen je tausend Tumorzellen ausgezählt.

Mitoserate:

Die Teilungshäufigkeit der freischwimmenden DS-Karzinomzellen steigt bis zum 5. Tag nach der intraperitonealen Impfung an, erreicht zu diesem Zeitpunkt mit 36 Teilungen pro tausend Zellen ein Maximum und sinkt in den folgenden Tagen langsam wieder ab (Abb. 3).

Gesamtzell- und Mitosezahl:

Die Gesamttumorzellzahl und die Gesamtmitosenzahl verhalten sich ähnlich wie die Mitosehäufigkeit, sie steigen bis zum 6. Tag nach der Impfung an, während die Ge-

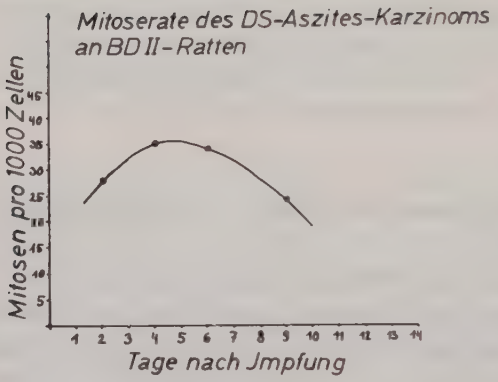

Abb. 3: Entwicklung der Mitosehäufigkeit des DS-Aszites-Karzinoms an BD II - Ratten

samtmitosenzahl langsam wieder abnimmt, bleibt die Gesamtzellzahl auf gleichem Pegel. Die Erscheinung hat eine gewisse Parallele in dem Wachstum von Keimen auf Nährböden (hier der Aszites) und kann analog zu diesem Phänomen erklärt werden (Abb. 4, jeder Punkt entspricht 2 Tieren).

Absterbezeit der aszitestumor-tragenden Tiere:

Die Entwicklung des Aszitestumors führt bei den Versuchstieren zwischen dem 12. und 16. Tag zum Tode, das Absterbemaximum liegt beim 14. Tag. Bei anderen Untersuchern lag die größte Häufigkeit beim 13. Tag (BROCK und NIEKAMP 1965), was auf die Überimpfung größerer Zellzahlen als in dem vorliegenden Versuch zurückzuführen ist.

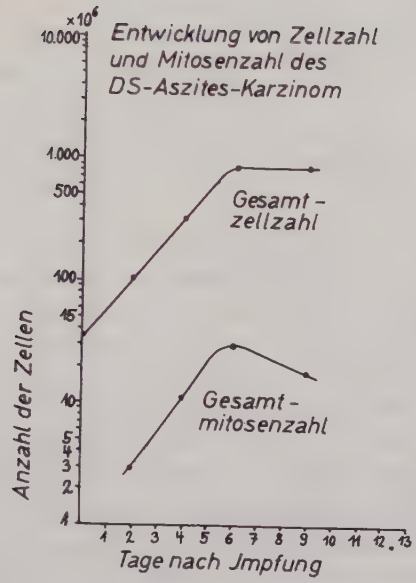

Abb. 4: Entwicklung von Zellzahl und Gesamtzahl der Mitosen. Jeder Punkt entspricht 2 Tieren

3 b) Chemotherapie mit Endoxan an DS-Aszites-Karzinom

Der Versuch dient der Ermittlung des Verhaltens der Wachstumsgeschwindigkeit des DS-Aszites-Karzinoms nach Chemotherapie mit Endoxan bei unterschiedlich eiweißreicher Diät. Die Untersuchung dieser Frage wurde an erwachsenen BD II Inzuchtratten durchgeführt, die 240 Gramm wogen. Die Versuchstiere erhielten 40 Millionen Tumorzellen mit einer Tuberkulinspritze in die Bauchhöhle injiziert. Alle im Versuch befindlichen Tiere wurden mit der Standarddiät ernährt. Am 4. Tag nach der intraperitonealen Impfung der Tumorzellen, zum Zeitpunkt der höchsten Mitosehäufigkeit (Abb. 3),

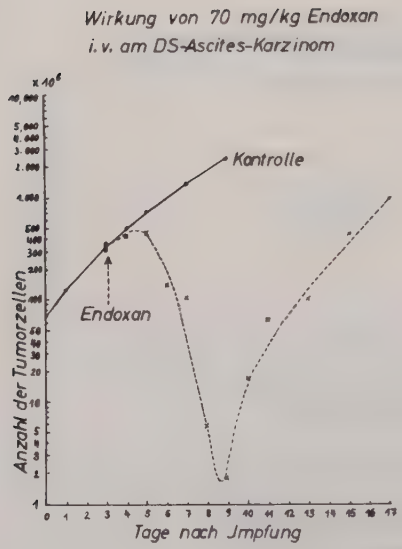

Abb. 5: Entwicklung der Zellzahl nach i,v. Gabe von 70 mg/kg Endoxan, Altrominfütterung

wurde den aszitestumor-tragenden Tieren in die laterale Schwanzvene 70 mg reines Endoxan pro Kilogramm Korpergewicht, gelöst in physiologischer Kochsalzlosung, gespritzt. Die Tiere wurden jetzt auf 2 Gruppen verteilt, von denen die eine zusätzlich zur Standarddiät 5 Gramm Leber pro Tier und Tag gefüttert bekam.
Die Tumorzellzahl fällt nach der Endoxangabe zunächst stark ab, doch ist es sogar mit den verwendeten hohen Dosen Endoxan beim DS-Karzinom nicht moglich, eine Heilung zu erzielen. Folglich steigt die Gesamtzellzahl, nach einem Minimum am 5. und 6. Tag nach der Endoxangabe, wieder an (Abb. 5, aus DRUCKREY, STEINHOFF, NAKAYAMA, PREUSSMANN und ANGER, 1963).

Da im vorliegenden Versuch von geringeren Zellzahlen ausgegangen wird als in Abbildung 5, ist der Zeitpunkt der Chemotherapie vom 3. auf den 4. Tag verschoben. Der Zeitpunkt der Tötung der Tiere, die am 6. Tag nach der Endoxangabe erfolgt, ist so geplant, daß aus einem Zellzahlminimum, bedingt durch den Stillstand der Zellteilung und Zerfall der Zellen nach der Chemotherapie, die Mitosen mit dem Wiederaufleben gerade beginnen.
Es werden Aszitesmenge, Gesamtzellzahl und Mitoserate bestimmt. Da die Gesamtzellzahl von der Aszitesmenge abhängig ist, deren Größe starken Schwankungen unterliegt, wird als Kriterium für die Wachstumsbedingungen nur die Mitoserate benützt. Der Mittelwert der Mitosehäufigkeit in der Gruppe ohne Leberfütterung liegt bei 27,7 mit den Grenzen ($m \pm t\, s_m$) von 25,1 und 30,3. Der Mittelwert der lebergefütterten Gruppe beträgt 32,5 mit den Grenzen ($m \pm t\, s_m$) bei 30,2 und 34,8. Die nach der Maximum-Likelihood-Methode angepasste Regressionsgerade für die beobachteten Mitosehäufigkeiten in den beiden Gruppen zeigt Abbildung 6.
Das Körpergewicht der Tiere während des Versuchs wurde durch Wiegen in Abständen von 2 Tagen verfolgt. Dabei ergibt sich, daß das Gewicht der Tiere nach der Impfung mit Tumorzellen, bedingt durch die einsetzende Aszitesbildung, stark ansteigt; auf die Endoxantherapie mit einem starken Gewichtsabfall reagiert, wobei in beiden Versuchsgruppen das Ausgangsgewicht unterschritten wird. Es erholt sich bis zum 6. Tag nach der Endoxangabe, dem Zeitpunkt der Tötung der Tiere nicht, obwohl wieder größere Mengen Aszites gebildet werden.

c) Weiterimpfung der Asziteszellen nach Chemotherapie

Da aus dem vorausgegangenen Versuch nur zu entnehmen ist, daß in der Gruppe von Versuchstieren, die

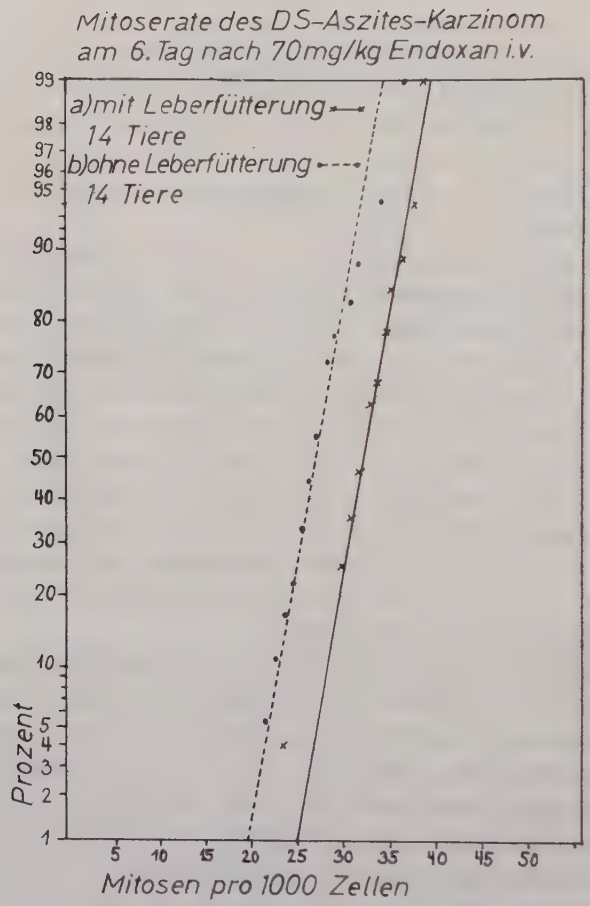

Abb. 6: Verteilung der beobachteten Mitosehäufigkeiten

zusätzlich zur Standarddiät Leber gefüttert bekamen, die Mitoserate erhöht ist, nicht aber, ob dieser Befund Ausdruck einer nur quantitativen Zunahme der Mitosen oder aber Zeichen einer Selektion der Zellen ist,

wurde Aszites weiterverimpft, der in der 1. Generation bei unterschiedlich eiweißreicher Ernährung der Wirtstiere mit Endoxan behandelt worden war. Dazu wurde BD II - Ratten steril Aszites entnommen, die DS-Aszitestumor trugen und am 6. Tag nach der Injektion von 70 mg/kg Endoxan zur Analyse von Aszitesmenge, Gesamtzellzahl und Mitoserate getötet worden waren. Einer Gruppe von BD II - Ratten wurden pro Tier 20 Millionen Tumorzellen von eiweißreich gefütterten Tieren, der anderen Gruppe 20 Millionen Zellen von Spendertieren intraperitoneal gespritzt, die nur mit der Standarddiät gefüttert worden waren.

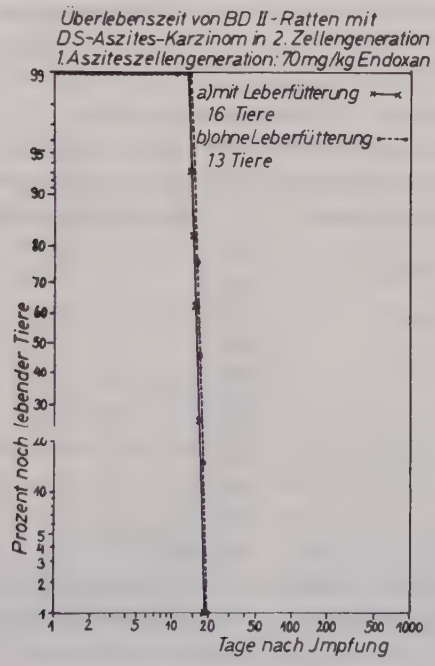

Abb. 7: Verhalten der Überlebenszeit von BD II - Ratten mit DS-Aszites in 2. Generation

Das Körpergewicht der benützten BD II - Ratten lag zu Beginn des Versuches bei 185 Gramm, das Gewicht wurde in 2-tägigen Abständen kontrolliert. Alle Tiere im Versuch erhielten die Standarddiät und Wasser ad libitum gefüttert. Als Versuchskriterium diente die Überlebenszeit der Tiere. Die Tiere starben in beiden Gruppen zwischen dem 14. und 18. Tag, mit einem Mittelwert am 16. und 17. Tag. In der Überlebenszeit trat kein Unterschied auf (Abb. 7).

Auch in der Zunahme des Korpergewichts während des Versuchs, bedingt durch die Aszitesbildung, war kein Unterschied zu bemerken; das Gewicht stieg bis zum 12. Tag nach der Impfung in beiden Gruppen um den gleichen Wert, 25 Gramm in der Gruppe mit Leberfütterung in der

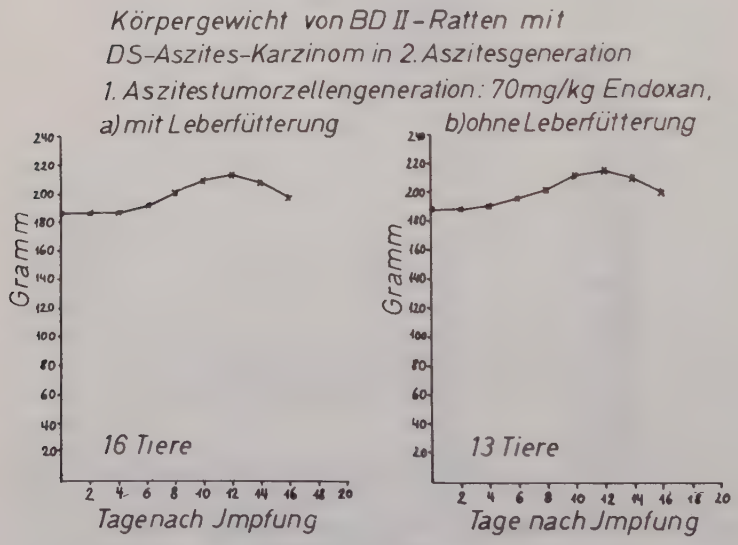

Abb. 8: Entwicklung des Körpergewichts von BD II - Ratten mit DS-Aszitеskarzinom in 2. Generation

1. Zellgeneration, 27 Gramm in der Gruppe der nur standardgefütterten 1. Generation.(Abb. 8).

II. Versuche mit eiweißarmer Grundnahrung

In den bisherigen Versuchen war als Grundnahrung die Standardlaboratoriumsdiät verwendet worden, aus deren Zusammensetzung (Tab. 1) ersichtlich ist, daß sie in bezug auf Eiweiß sowohl quantitativ als auch qualitativ vollwertig ist. Diese Grundnahrung war gewählt worden, um der Ernährung Krebskranker in der Klinik möglichst ähnliche Versuchsbedingungen zu schaffen. Aus der Verwendung dieser Diät ergab sich aber, daß durch zusätzliche Leberfütterung keine ins Gewicht fallende Differenz in der Eiweißaufnahme der Tiere zu erreichen war, so daß die Versuchsergebnisse möglicherweise in ihrer Aussagekraft beeinträchtigt waren. Um den Einfluß des Eiweißes auf die Versuchsergebnisse deutlicher klären zu können, wurden deshalb Versuche mit eiweißarmer Grundnahrung geplant.

1. Wachstum des unbehandelten, soliden Yoshida-Sarkoms

Da nicht bekannt war, wie die Tiere auf eiweißarme Nahrung reagieren würden, wurde der Versuch mit alten, 350 Gramm schweren, männlichen Sprague-Dawley-Ratten durchgeführt. Allen Tieren wurden 2 Tumorstücke des Yoshida-Sarkoms von der Größe 5 x 3 x 1 mm subkutan, hoch am Rücken implantiert. Der Tumor ging auch bei den alten Tieren ohne Ausnahme an. Alle Tiere bekamen als Grundnahrung 30 Gramm Reis-Öl-Gemisch, Karotten und die Salzgemischlösung nach Mc COLLUM ad libitum geboten; die Hälfte der Tiere erhielt zusätzlich 5 g Leber pro Tag und Tier über die Versuchsdauer vom 2. Tag nach der Impfung ab.

a) Tumorgewicht:

In der Gruppe mit Leberzusatzfütterung zeigt sich von Anfang an ein gutes Wachstum des Tumors. In der Gruppe ohne Leberfütterung ist das Tumorwachstum dagegen zu Beginn zögernd, der Tumor entwickelt sich erst vom 12. Tag nach der Impfung ab deutlich. Dasselbe Tumorgewicht wird in der Gruppe ohne Leberfütterung viel später erreicht als in der eiweißreich gefütterten, in der auch die Steilheit der Tumorentwicklung verstärkt ist (Abb. 9).

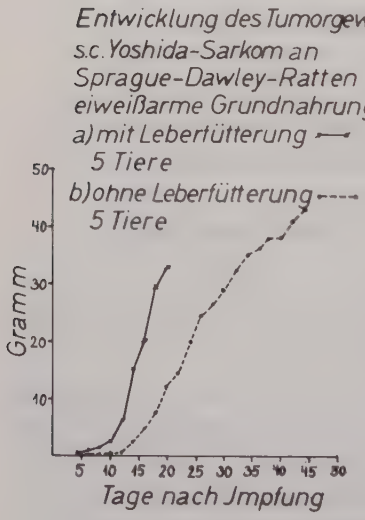

Abb. 9: Gewichtsentwicklung des s.c. Yoshida-Sa bei unterschiedlichem Ei - weißgehalt der Nahrung

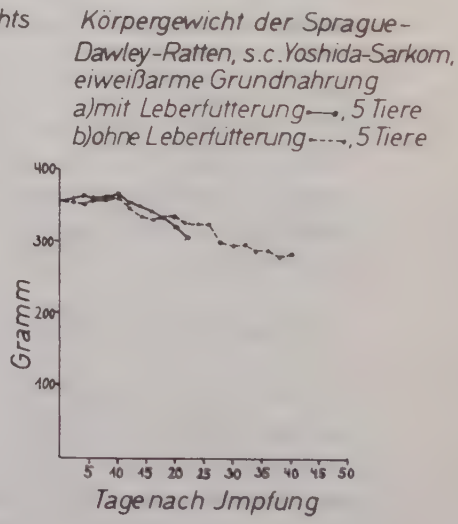

Abb. 10: Körpergewicht von Sprague-Dawley-Ratten bei different eiweißreicher Kost

Bis zu dem Zeitpunkt, zu dem das Tumorgewicht etwa 1/10 des Gewichts des Wirtstiers erreicht, ergibt die

Wachstumskurve des Tumors eine Gerade auf dem doppeltlogarithmischen Netz, der Tangens beträgt annähernd 3. Dies läßt einen gewissen Rückschluß auf das Naturgesetz zu, unter dem das Tumorwachstum steht (Abb. 9a).

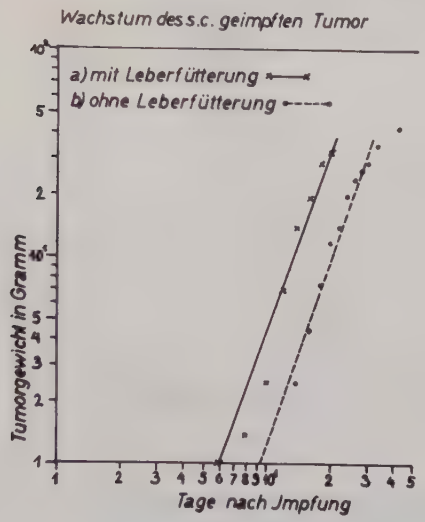

Abb. 9a : Wachstum des s.c. Yoshida-Sarkoms mit und ohne Leberfütterung

Zum Vergleich wird das Wachstum verschiedener Tumoren gezeigt, das auf die selbe Weise dargestellt ist (Abb 9b) Der Tangens aller Geraden beträgt 3, die genaue Parallelität ist erstaunlich. Die durch eine weitgehende Reduzierung der Eiweißaufnahme erreichte parallele Verschiebung der Tumorwachstumskurve erscheint wie der Erwerb des Charakters eines anderen Tumors.

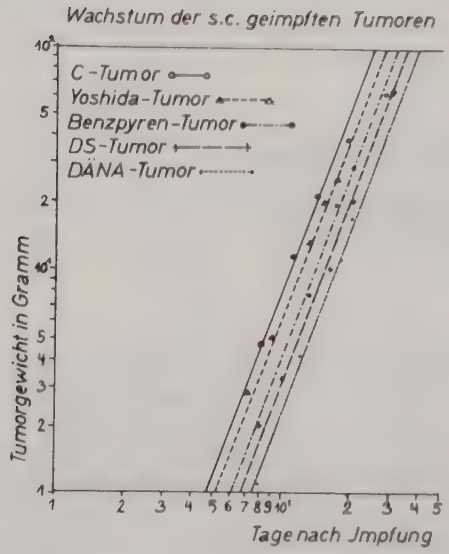

Abb. 9b : Wachstum verschiedener s.c. geimpfter Tumoren (Nakayama 1963, unveröffentlicht)

b) Körpergewicht:

Das Körpergewicht sinkt im Verlauf des Versuchs langsam ab, das Gewicht der lebergefütterten Tiere verfällt etwas schneller (Abb. 10).

c) Absterbezeit:

Die lebergefütterten Tiere sterben wesentlich früher als die Tiere, die nur mit der eiweißarmen Kost gefüttert werden. Nachdem am 30. Versuchstag schon alle 5 lebergefütterten Tiere gestorben sind, leben von den 5 eiweißarm ernährten Tieren noch 4 (Abb. 11).

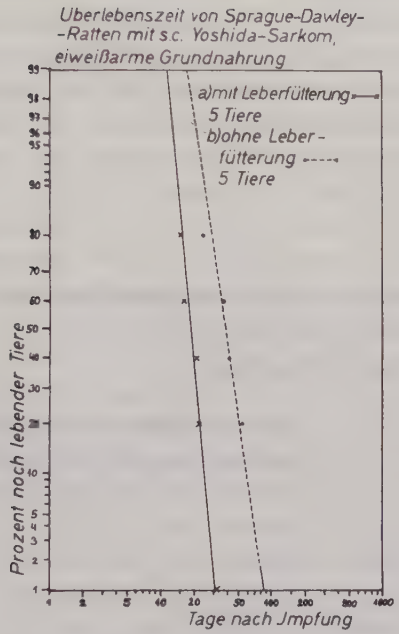

Abb. 11: Überlebenszeit von Sprague-Dawley-Ratten mit s.c. Yoshida-Sarkom bei differentem eiweißreicher Ernährung

Die Bewertung experimenteller oder klinischer Beobachtungen wird durch die graphische Darstellung wesentlich erleichtert. Besonders in den Fällen, in denen eine Gesetzmässigkeit der beobachteten Werte zu erkennen ist, wird die graphische Darstellung eindrucksvoll und die Aussage überzeugender. Mittels des "Log-Normalen" (Abb. 2, 7, 11) beziehungsweise "Normalen" Wahrscheinlichkeitsnetzes kann man die Genauigkeit der Versuche augenscheinlich feststellen. Die Anpassung der erhaltenen einzelnen Werte ist so gut, daß man trotz der niedrigen Tierzahl mit großer Wahrscheinlich-

keit eine Aussage machen darf. So kann man zum Beispiel in der Abbildung 11 die Überlebenszeit des letzten Tieres vor seinem Ableben ablesen, was bei der allgemein üblichen Darstellungsweide nicht moglich ist. (siehe Abb. 11a).Die Darstellung im log-normalen Wahrscheinlichkeitsnetz ist deshalb sowohl im Tierexperiment als auch in der Klinik zu empfehlen.

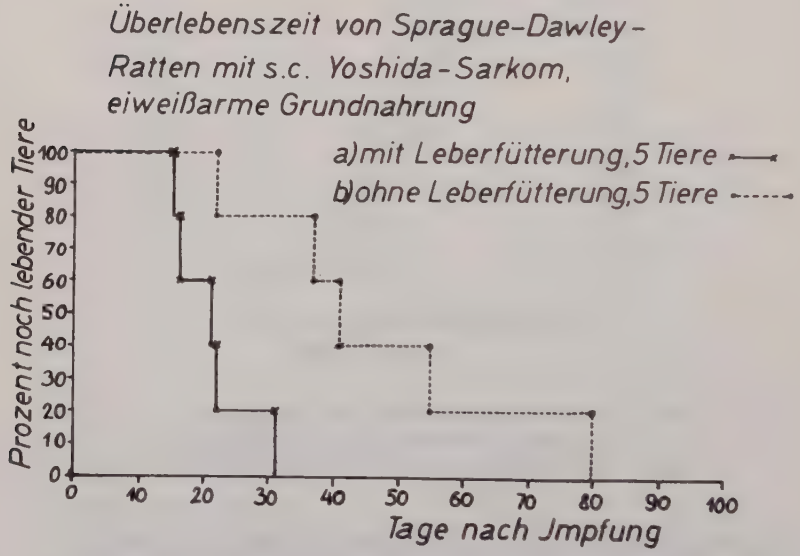

Abb. 11a: Überlebenszeit von Sprague-Dawley-Ratten mit s.c. Yoshida-Sarkom bei eiweißarmer Grundnahrung, mit und ohne Leberfütterung.

2. Angehrate von DS-Zellen bei Simultan-Endoxantherapie und unterschiedlich eiweißreicher Diät

Auch bei sorgfältigster Radikaloperation maligner Geschwülste ist es wahrscheinlich nicht zu verhindern,

daß während der Operation eine Aussaat von Tumorzellen erfolgt oder daß Tumorgewebe im Organismus zurückbleibt, was den Wert des Eingriffs für die endgültige Heilung sehr in Frage stellt, wenn man bedenkt, daß in einem Kubikmillimeter zurückgebliebenen Tumorgewebes 30 000 Krebszellen enthalten sind (DRUCKREY 1954). Es hat sich deshalb als nötig erwiesen, die Radikaloperation durch die Kombination mit der Chemotherapie zu ergänzen. Die Voraussetzungen für die Vernichtung zurückgebliebener Zellen selbst therapieresistenter Tumoren durch die Chemotherapie sind dabei viel günstiger, als bei dem Versuch, solide, große Geschwülste zu beeinflussen. Vergleichbare Bedingungen für die Heilung lassen sich im Tierversuch schaffen, wenn geringere Zellzahlen des therapieresistenten DS-Karzinoms den Tieren implantiert und anschließend mit Endoxan behandelt werden. Der Versuch wurde mit 250 Gramm schweren, erwachsenen männlichen BD II - Ratten durchgeführt. Alle Tiere erhielten als Grundnahrung 30 Gramm eines Reis-Öl-Gemisches, dazu Karotten und eine Salzgemischlösung nach Mc COLLUM ad libitum. 5 Tieren wurde nur diese Nahrung geboten, weiteren 5 Tieren wurden zusätzlich 5 Gramm Leber pro Tag und Tier zugeführt.

Endoxandosis	Geimpfte Zellzahl	Tumorangang
1 x 70 mg/kg	100 000	10/10 Tiere
1 x 70 mg/kg	30 000	9/10 Tiere
1 x 70 mg/kg	10 000	0/8 Tiere
1 x 70 mg/kg	1 000	0/10 Tiere

Tab. 5: Angangsrate des DS-Tumors bei simultaner Endoxantherapie, Altrominfütterung (STEINHOFF und NAKAYAMA, 1962, unveröffentlicht)

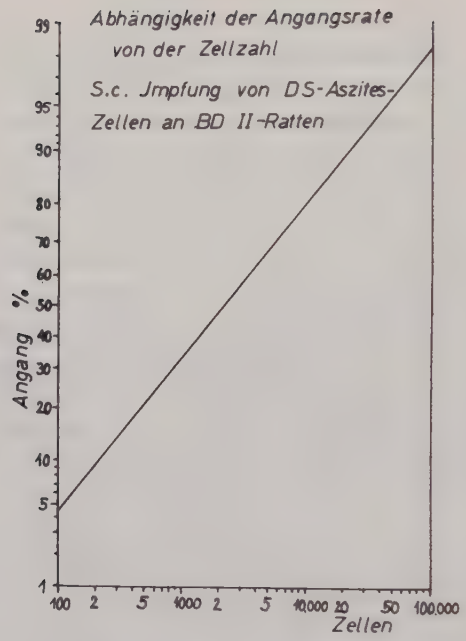

Abb. 12: Abhängigkeit der Tumorangangsrate von der verimpften Zellzahl. Altrominfütterung
(STEINHOFF und NAKAYAMA, 1962, unveröffentlicht)

Für die Überimpfung wurde die Zellzahl von 10 000 DS-Tumorzellen gewählt, weil hierbei noch ein hoher Tumorangang zu erwarten ist (Abb. 12). Gleichzeitig bietet diese Zellzanl den Vorteil, daß bei simultan durchgeführter Endoxantherapie der Tumorangang bei den meisten Tieren verhindert werden kann, was bei Zellzahlen über 30 000 nicht mehr der Fall ist, wie Tabelle 5 zeigt.
Für die Durchführung des Versuchs wurde einem DS-Aszitestumor tragenden Tier steril Aszites entnommen. Während der Aszites durch ständiges Schwenken am Sedimentieren gehindert wurde, konnte die Zellzahl

durch Auszählen in der Zählkammer bestimmt werden. Der Aszites wurde mit steriler Ringerlösung so verdünnt, daß anschließend ein Milliliter Lösung 10 000 Tumorzellen enthielt. Diese Aszitesverdünnung wurde mit einer Tuberkulinspritze den Tieren subkutan in die Rückenhaut gespritzt, so daß jedes Tier 10 000 Tumorzellen implantiert bekam.
Unmittelbar anschliessend wurde den Tieren eine Lösung von Endoxan in physiologischer Kochsalzlösung in die laterale Schwanzvene injiziert; die gewählte Dosis betrug 70 mg Endoxan pro Kilogramm Körpergewicht.
Das Gewicht der Tiere wurde während der Beobachtungszeit in 2-tägigen Intervallen bestimmt, gleichzeitig wurden die Tiere auf das Manifestwerden des DS-Tumors hin untersucht. Das Ergebnis des Versuchs ist in Tabelle 6 wiedergegeben:

Gruppe mit Leberzusatzfütterung	Gruppe ohne Leberzusatzfütterung
Tag der ersten Tumorfeststellung	Tag der ersten Tumorfeststellung
14.	22.
16.	24.
20.	
22.	Tumor an den anderen 3
28.	Ratten nicht angegangen

Tab. 6: Tumormanifestation bei Endoxantherapie und verschieden eiweißreicher Ernährung der Versuchstiere

Die Irrtumswahrscheinlichkeit für die Aussage, daß der Tumorangang bei simultaner Endoxantherapie für eiweißreich gefütterte Tiere größer ist, beträgt selbst bei dieser kleinen Tierzahl nur 8,3 Prozent.

Es kann also in der Gruppe ohne Leberfütterung die Endoxantherapie bei 3 von 5 Tieren den Tumorangang verhindern. In der Gruppe mit Leberzusatzfütterung wird bei allen 5 Tieren ein Tumorangang beobachtet, der ausserdem früher erfolgt als in der anderen Gruppe. Die Wirkung der Endoxantherapie ist bei den lebergefütterten Tieren praktisch aufgehoben.

	mit Leber	ohne Leber	
Tumorangang	5	2	7
kein Tumorangang	0	3	3
	5	5	10

Tab. 7: Verteilung des Angangs von 10 000 DS-Karzinomzellen bei unterschiedlich eiweißreich ernährten BD II - Ratten bei simultaner Endoxantherapie

D. Diskussion

Die vorliegende Arbeit war als Beitrag zur Klärung der Frage unternommen worden, ob die Wirksamkeit der Krebschemotherapie mit Endoxan durch unterschiedlich eiweißreiche Ernährung oder parenterale Eiweißzufuhr eine Veränderung erleidet.

Den ersten Hinweis auf den grundsätzlichen Einfluß der durchgeführten Leberfütterung gaben bereits die Versuche an Sprague-Dawley-Ratten mit dem soliden Yoshida-Sarkom, wobei keine Chemotherapie durchgeführt worden war. Der in der Gruppe mit Standarddiät und Leberzusatzfütterung aufgetretene Gewichtsabfall war ausgeprägter als in der nur mit Standarddiät gefütterten Gruppe. Ausserdem zeigte sich, daß von den lebergefütterten Tieren dasselbe Tumorgewicht deutlich früher erreicht wurde als von den normal gefütterten Tieren. Diese Beobachtung wurde in eindrucksvoller Weise durch das Ergebnis einer Wiederholung des Versuchs unter modifizierter Fütterung der Tiere bestätigt. Dabei war der Unterschied im Eiweißgehalt der Nahrung durch die Verwendung eines eiweißarmen Reis-Öl-Gemisches stärker betont worden. War die Differenz des Tumorwachstums in der Versuchsanordnung Standardfutter/Standardfutter + Leber schon deutlich, so war sie zwischen der eiweißarm ernährten Gruppe und der Gruppe, die durch zusätzliche Leberfütterung ausreichende Proteinmengen zugeführt bekam, augenfällig erhöht. Dazu gingen die implantierten Tumoren bei den eiweißarm ernährten Tieren verzögert an, das Wachstum und die Entwicklung der Geschwülste waren weiterhin verlangsamt. Gleichzeitig trat eine auffällige Verlängerung der Überlebenszeit der eiweißarm gefütterten Tiere auf (Abb. 11), die in der Versuchsanordnung mit Standardfutter nur angedeutet war (Abb. 2).

Der beobachtete Einfluß von Protein auf das Geschwulstwachstum besteht aber nicht nur auf den unbehandelten

Tumor, er bleibt auch über die Chemotherapie mit Endoxan hinaus bestehen.
So zeigte sich, daß bei Yoshida-Sarkom tragenden Tieren nach Endoxantherapie durch die Leberfütterung die Rezidivrate signifikant höher gegenüber den normal ernährten Tumorträgern war (Tab. 4). In der mit Leber gefütterten Gruppe war immerhin bei 5 von 10 Tieren ein Rezidiv zu beobachten, in der anderen Gruppe dagegen nur bei einem von 10 Tieren; hier konnten 9 Ratten von 10 durch die Chemotherapie geheilt werden. Die Wirksamkeit des Endoxans erwies sich somit an den eiweißärmer gefütterten Tieren als wesentlich besser, ihre Heilungschancen waren deutlich höher. In dem Versuch mit DS-Aszites-Karzinom an BD II- Ratten war ein aufschlußreicher Unterschied im Verhalten der Tumorzellen nach Endoxantherapie bei unterschiedlicher Eiweißaufnahme zu beobachten. Es ergab sich bei der Untersuchung am 6. Tag nach der Chemotherapie eine deutliche Differenz in der Mitosehäufigkeit der Tumorzellen. Der Mittelwert aus den beobachteten Mitoseraten der lebergefütterten Tiere lag mit 32,5 Promille signifikant höher als der Mittelwert der Gruppe ohne Leberfütterung mit 27,7 Promille.
Eine Klärung, ob der Grund für diese unterschiedliche Teilungsrate an die Zellen selbst fixiert oder aber im Organismus zu suchen sei, wurde mit der Weiterimpfung gleicher Zellzahlen des behandelten DS-Asziteskarzinoms auf BD II - Ratten gesucht. Dieser Versuch erbrachte nur das Ergebnis, daß sich die Tumorzellen in 2. Generation weitgehend gleich verhalten, unabhängig vom Eiweißgehalt der Nahrung, die den mit gleichen Dosen Endoxan behandelten Trägern der 1. Generation geboten worden war. Die Tiere, welche die 2. DS-Asziteszellgeneration trugen, starben nach gleichen Zeiträumen (Abb. 7), auch die Aszitesbildung wies keinen Unterschied zwischen den beiden Gruppen auf, wenn vom

Gesamtkörpergewicht auf die Aszitesbildung geschlossen werden darf (Abb. 8). Ein Unterschied der Teilungshäufigkeit, als deren Folge auch der Gesamtzellzahl, ergibt sich nur unter den Bedingungen, die für die 1. Zellgeneration herrschten. Da bei Überimpfung gleicher Zellzahlen unterschiedlicher Herkunft sich diese bei einheitlicher Ernährung in analogen Größenordnungen entwickeln, kann daraus gefolgert werden, daß unter den Bedingungen der 1. Zellgeneration keine Veränderung der Wachstumscharakteristika der Tumorzellen erfolgte. Es liegt deshalb nahe, den Grund für die beobachteten Wachstumsunterschiede im Wirtsorganismus zu suchen, beziehungsweise in den Bedingungen, die für die Entwicklung der Tumorzellen herrschen.
Auf Bedingungen, die vom Eiweißgehalt der gebotenen Kost abhingen, lassen auch die Ergebnisse des Versuchs zur Bestimmung der Angehrate einer geringen Zellzahl des DS-Asziteskarzinoms bei simultaner Endoxantherapie schliessen. Bei den lebergefütterten Tieren wurde ab dem 14. Tag nach der Impfung bei allen 5 Ratten der Angang der überimpften Zellen trotz Endoxan manifest, die Chemotherapie hatte hier keinen Erfolg gezeigt. Dagegen traten bei den eiweißarm ernährten Tieren nur in 2 Fällen Tumoren auf, die sich ausserdem zu einem späteren Zeitpunkt als in der ersten Gruppe, nämlich am 22. und 24. Tag, zeigten. Auch hier war, ähnlich wie beim Yoshida-Sarkom, die Heilungschance für die eiweißarm ernährten Tiere deutlich erhöht, die Irrtumswahrscheinlichkeit von 8,3 Prozent für die Annahme, daß der Tumorangang bei proteinreicher Kost erhöht ist, stellt für die geringe zur Verfügung stehende Tierzahl ein gutes Ergebnis dar.
Die Versuchsergebnisse weisen darauf hin, daß Eiweiß, hier durch eine Leberfütterung zugeführt, das Tumorwachstum über den Wirtsorganismus positiv beeinflusst. Dabei war eine gewisse Abhängigkeit des Wachstumsunterschieds der Tumoren von der Differenz des Proteinge-

halts der Nahrung festzustellen. Das langsamste Tumorwachstum und die längsten Überlebenszeiten waren bei den eiweißarm ernährten Tieren zu beobachten, ähnlich wie bei ihnen die geringste Mitoserate und die niedrigste Rezidivhäufigkeit zu finden war, während bei den eiweißreich ernährten Tieren gegenteilige Beobachtungen zu machen waren.

Vergleichbare Beobachtungen über beschleunigtes Wachstum von Tumoren bei eiweißreicher Ernährung hatten schon die Versuche anderer Autoren erbracht (VOEGTLIN and THOMPSON 1936, VOEGTLIN and MAYER 1936, VOEGTLIN et al. 1936, MORRIS and VOEGTLIN 1940, KOCHER 1944, GREEN et al. 1950, DEVIK et al. 1950), deren Ergebnisse DRUCKREY (1954) veranlassten, für die symptomatische und konservative Therapie bei Krebskranken die Wahl einer mässigen und besonders eiweißarmen Kost zu empfehlen.

Über eine weitere Wirkung proteinreicher Nahrung berichten TANNENBAUM und SILVERSTONE (1953), die bei der Krebserzeugung mit verschiedenen cancerogenen Substanzen eine deutlich beschleunigte und erleichterte Tumormanifestation beobachteten.

Eine Erklärung für die beobachteten Phänomene mag in dem Umstand gegeben sein, daß einer der grundsätzlichen Unterschiede entarteter gegenüber normalen Zellen darin zu sehen ist, daß bei der Krebszelle die endozellulären Hemmungsmechanismen in Wegfall gekommen sind (CASPERSSON, NYSTRÖM und SANTESSON 1941), woraus der abnorme Stoffwechsel und die schrankenlose Zellvermehrung resultieren. Als deren Ausdruck kann zum einen der hohe RNS-Gehalt der Kernfraktion gegenüber normalem Gewebe (DANNENBERG 1959), zum anderen die Vermehrung der DNS (STOWELL 1945) angesehen werden. Ein erhöhter Nukleinsäureumsatz in Tumoren wurde auch durch v.EULER und v.HEVESY (1942) gezeigt. Für ein expansives Wachstum sind maligne Tumoren auf die Zufuhr großer Mengen von Eiweißbausteinen angewiesen, was in den vorliegen-

den Versuchen durch die Verfütterung von Leber geschah. Dadurch wurde das im Blut enthaltene Angebot an für den Zellstoffwechsel und besonders für die Zellreduplikation benötigten Metaboliten erhöht, die verstärkte Zellteilung, deren Ausdruck die Mitoserate ist, konnte als Folge verstärkter Eiweißzufuhr im Versuch gezeigt werden. Das ebenfalls beobachtete schnellere Tumorwachstum und die kürzere Überlebensdauer sind eine direkte Folge der erhöhten Zellteilung.
Die angeführte Erhöhung des Angebots an Zellbausteinen ist nicht der einzige Weg, über den ein Einfluß des Proteins auf das Tumorwachstum erfolgen kann. Es ist bekannt, daß durch die Aufnahme größerer Mengen tierischen Eiweißes die Produktion und Abgabe von Wachstumshormon stimuliert wird (SELYE 1955). Der vermehrten Ausscheidung von STH kommt eine direkte Wirkung auf die Krebszelle über die Begünstigung von Mitosen zu; wenn diesem Faktor wahrscheinlich auch keine entscheidende Bedeutung zukommt, so läßt er sich theoretisch doch nicht ausschliessen. Eine indirekte Wirkung von STH auf die Krebszelle zeigt ein Versuch SELYE's(1955), der ergeben hat, daß dem STH eine fördernde Wirkung bei der Ausbildung von Tumorgefäßen zukommt. Doch scheint die Wichtigkeit dieser indirekten Wirkung des Hormons nicht sehr groß zu sein, da der Unterschied zwischen eiweißarmer und eiweißreicher Ernährung auch an den Aszitestumoren zu erkennen ist, deren Ernährung nicht direkt durch Blutgefäße erfolgt.
Wenn der Einfluß von Protein auf das Geschwulstwachstum bei unbehandelten Tumoren letztlich von mehr theoretischem Interesse ist, da sich durch eine proteinarme Kost wohl der Tod der Tumorträger hinausschieben, nicht aber verhindern läßt, so kommt eiweißarmer Diät im Zusammenhang mit der Chemotherapie entscheidende Bedeutung zu, nicht nur wegen der Verlängerung der Überlebenszeit, sondern wegen der echten Heilung, wie sie in den Versuchen erzielt werden konnten.

Nach der Verabreichung zytostatischer Substanzen liegen die Tumorzellen unterschiedlich geschädigt vor, man kann zwischen Zellen unterscheiden, die voll teilungsfähig geblieben sind, solchen, die bedingt teilungsfähig sind und schließlich solchen, die teilungsunfähig sind. Abhängig von den Ernährungsbedingungen, insbesondere von der Menge der Eiweißmetaboliten, die der Organismus zur Verfügung stellt, werden sich zum einen die ungeschädigten Zellen zur Reduplikation anschicken, zum anderen die bedingt teilungsfähigen Zellen sich erholen und die Fähigkeit zur Zellneubildung wiedererlangen. Ein erneuter Stoß des Zytostatikums wird also durchaus unterschiedliche Zahlen vitaler Zellen antreffen, wovon seine Wirksamkeit entscheidend beeinflußt wird. In diesem Zusammenhang erscheint die Situation nach radikalen Operationen maligner Geschwülste besonders wichtig. Wenn auch durch radikale Eingriffe mit einiger Gewissheit nicht alle entarteten Zellen erfaßt werden können, so sind die im Organismus verbleibenden Zellzahlen aber gering genug, um eine Indikation für die Endoxanstoßtherapie zu sein. Daß beim Vorliegen geringerer Zellzahlen die Stoßtherapie mit Endoxan selbst bei höchst resistenten Malignomen eine entscheidende Rolle für die Heilung der Tumorträger spielt, konnte im Versuch mit dem weitgehend therapieresistenten DS-Karzinom gezeigt werden. Dabei ergab sich, daß die Wirkung des Endoxan durch Eiweißzufuhr aufgehoben wurde, von den eiweißreich gefütterten Tumorträgern konnte keiner geheilt werden, während dies bei den proteinarm ernährten gelang.
Im Hinblick auf die Ergebnisse, die in den durchgeführten Versuchen gewonnen werden konnten, ist es zu empfehlen, nach radikalen Operationen mit der Zufuhr von Eiweiß, sei es in Form von Transfusionen oder einer eiweißreichen Ernährung, zurückhaltend zu sein, um den Erfolg der Operation und der anzuschliessen-

den Chemotherapie nicht zu gefährden. Diese Empfehlung gilt natürlich nicht für inoperable, hoffnungslose Fälle, hier muß der schlechte Allgemeinzustand und die meist bestehende Anaemie mit Bluttransfusionen und anderen geeigneten Maßnahmen angegangen werden.

E. Zusammenfassung

Es wurde im Tierversuch am Yoshida-Sarkom und am DS-Karzinom für die Endoxantherapie gezeigt, daß durch die Verfütterung eiweißreicher Nahrung eine hohe Mitoserate, schnelles Tumorwachstum und erhöhte Rezidiv- und Tumorangangshäufigkeit zu beobachten war, während durch eiweißarme Fütterung eine Verbesserung der Heilungschancen oder wenigstens eine Verlängerung der Überlebenszeiten tumortragender Tiere nach der Endoxantherapie zu erreichen ist.

F. Literaturverzeichnis

1. BAUER,K.H. Das Krebsproblem, Springerverlag 1963
2. BROCK,N. Arzneimittelforschung 8, 1- 9, 1958
3. BROCK,N. und Th.v.KREIBIG, Naunyn-Schmiedebergs Archiv exp. Path. u. Pharmak. 249,117-145, 1964
4. BROCK,N. u. T.NIEKAMP, Zeitschrift für Krebsforschung 67, 1, 93-104, 1965
5. CASPERSSON,T.,C1.NYSTRÖM u.L.SANTESSON Naturwissenschaften 29, 29, 1941
6. CHAPMAN,D.D.,G.W.BROWN,J.L.CHAIKOFF,W.G.DAUBEN and N.O.FANSAH, Cancer Research 14, 372, 1954
7. DANNENBERG,H. Biochemie der Tumoren, in: FLASCHEN-Träger,B und E.LEHNARTZ: Physiol. Chemie II/2c, 1959
8. DEVIK,F.,L.A.ELSON,P.C.KOLLER a. L.F.LAMERTON: Brit. J. Cancer 4, 298, 1950
9. DRUCKREY,H.,P.DANNEBERG, W.DISCHLER u. D.STEINHOFF: Arzneimittelforschung 12, 911, 1962
10. DRUCKREY,H. Deutsche Med. W.-Schrift 45, 1667,1954
11. DRUCKREY,H.,D.STEINHOFF,M.NAKAYAMA,R.PREUSSMANN u. K.ANGER: Deutsche Med.W.-schrift 88,13,14,1963
12. DOKUMENTA GEIGY 1960
13. DUNHAM,L.J. a. H.L.STEWART: Journ. Nat. Cancer Inst. 13,1299,1953
14. EULER,H.v., u. G.v.HEVESY: Danske Vidensk. Selsk. Biol. Medd. 17, 1, 1942
15. FARRIS,E.J. a. J.Q.GRIFFITH: The Rat in Laboratory Investigation, Hafner Publ. New York 1962
16. FLEISCHER,J. Folia Hämat. Neue Folge 7,323,1963
17. GREEN,J.W.,E.P.BENDITT a. E.M.HUMPHREYS: Cancer Research 10, 769, 1950
18. GREENSTEIN,J.P.: Biochemistry of Cancer, Academic Press New York 1954
19. GROPP,A.: Z.f.Krebsforschung 58,438,1952
20. HAGEMANN,E.: Ratte und Maus, DeGruyter u. Co 1960
21. KIRSCHBAUM,A.,N.C.GEISSE,T.JUDD and L.M.MEYER: Cancer Research 10, 762, 1950

22. KOCHER,R.A. : Cancer Research 4, 251, 1944
23. LITTLE,P.A., J.J.OLESON and Y.SUBBA ROW:
J. Lab. Clin. Med. 33, 1139, 1948
24. McCOLLUM a. SIMMONDS: J.Bio.Chem. 33, 55, 1918
25. MORRIS,H.P. a. C.VOEGTLIN: Jor. Biol. Chem.
133, LXIX - LXX
26. NAKAHARA,W. a. F.FUKUOKA: Gann 40, 45, 1949
27. SATO,T.: Bull.Inst.Pub.Hlth.,Tokyo 12/4,105,1963
28. SCHMÄHL,D. u. T.RIESEBERG: Naturwissensch. 43,
475, 1956
29. SCHMÄHL,D. u. T.RIESEBERG: Z.f.Krebsfo. 62,456,1958
30. SELYE,H.: Fifth Annual Report on Stress,
Acta Inc. Med. 1955
31. SELYE,H. Z. f. Krebsforschung 60, 316, 1955
32. SIGUARA,K. a. S.BENEDICT:J.Canc. Res. 14,311,1930
33. SILVERSTONE,H.a.TANNENBAUM:Canc.Res. 10,448,1950
34. STERN,K.a.R.WILLHELM: The Biochemistra of Malig-
nant Tumors, Reference Press, New York 1943
35. STÖRCK,H.C. a. G.A.EMERSON: Proc. Soc. Exptl.
Biol. Med. 70, 703, 1949
36. STOWELL,R.E.: Cancer Research 5, 285, 1945
37. TANNENBAUM,A.: Cancer Research 2, 468, 1942
38. TANNENBAUM,A. and A.SILVERSTONE: Adv. Cancer
Research 1, 452,1953
39. VOEGTLIN,C. and J.Q.THOMPSON: U.S. Publ. Health
Reports 51, 1429. 1936
40. VOEGTLIN,C. and M.E.MAVER: U.S. Publ. Health
Reports 51, 1436, 1936
41. VOEGTLIN,C.,J.M.JOHANSSEN and J.W.THOMPSON:
U.S.Publ.Health Reports 51, 1689, 1936
42. WEBER,E.: Grundriss der biol. Statistik,
Gustav Fischer Verlag, Jena 1964

ferner

Druckschrift der Firma Hope Farms, Leiden Niederlande

Herrn Professor Dr. Georg Maurer möchte ich ergebenst danken für die freundliche Überlassung des Themas, ebenso Herrn Oberarzt Dr. Lechner für die Betreuung der Arbeit.
Besonders herzlich danke ich Herrn Dr. M. Nakayama, der mir seine Unterstützung und seine Erfahrung jederzeit in Rat und Tat zur Verfügung stellte.

LEBENSLAUF

Am 16. Februar 1941 wurde ich in Cham in der Oberpfalz geboren als 1. Kind des Möbelfabrikanten Johann Schoyerer und seiner Ehefrau Luise, geborene Bücherl. Ich habe noch 3 jüngere Geschwister.
Da ich 1947, dem Zeitpunkt, zu dem ich schulpflichtig wurde, bei Verwandten auf Schloß Wolfstein lebte, trat ich im September 1947 in die 1. Klasse der Knabenvolksschule Freyung ein. Die 2., 3. und 4. Klasse der Volksschule besuchte ich die Knabenvolksschule meines Heimatortes Cham.
Im September 1951 trat ich in den mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig der Oberrealschule mit Gymnasium Cham ein, diese Schule verließ ich nach 9 Jahren mit dem Reifezeugnis.
Für das Wintersemester 1960/61 erhielt ich die Zulassung zum Studium der Medizin an der Ludwig-Maximilian-Universität München, wo ich nach dem Sommersemester 1961 das Vorphysikum, nach dem Wintersemester 1962/63 das Physikum ablegte. Der medizinischen Staatsprüfung unterzog ich mich in München nach dem Wintersemester 1965/66, am 1. August 1966 schloß ich sie erfolgreich ab.
Seit dem 1. September 1966 bin ich als Medizinalassistent in der chirurgischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses München rechts der Isar unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Maurer tätig.